1874
Lane Medical Library

Ein Beitrag

zur

Kenntniss der Gallenfarbstoffe.

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

in der

Medicin, Chirurgie und Geburtshülfe.

Vorgelegt

der hohen medicinischen Facultät zu Göttingen

von

Adolf Creite

aus Helmstedt.

GÖTTINGEN 1874.

Druck der Dieterichschen Univ. - Buchdruckerei.

W. Fr. Kaestner.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154009_0322

Von den Bestandtheilen des thierischen Körpers sind wohl wenige sowohl in Bezug auf ihre Abstammung als auch auf ihre chemische Zusammensetzung so unbekannt, wie die Farbstoffe, obgleich die genaue Kenntniss derselben für die Lehre vom Stoffwechsel sehr wichtig ist. Selbst über den im Körper in grösster Menge vorkommenden Farbstoff, den des Blutes nämlich, sind die Untersuchungen noch nicht abgeschlossen, die übrigen noch vorkommenden Farbstoffe, speciell die der Galle und des Harnes, sind aber noch weit weniger bekannt. Wenn auch die Entstehung der letztgenannten Stoffe aus dem Blutfarbstoff nicht direct nachgewiesen ist, so liegt doch die Vermuthung nahe, dass sie Abkömmlinge des Hämatokrystallins sind und man hat sogar behauptet, dass ein Abkömmling des Blutfarbstoffes, das Haemotoidin, mit dem Hauptrepräsentanten der Gallenfarbstoffe, dem Bilirubin, identisch sei. In neuerer Zeit ist dies namentlich von Jaffé [1]) hervorgehoben, welcher andererseits auch nachgewiesen hat [2]), dass sich aus Galle und aus Harn Farbstoffe darstellen lassen, welche in spectroscopischer Beziehung ganz identisch sind.

Im Verlauf der unten mitgetheilten Untersuchung habe ich bei Behandlung des Bilirubins mit Säuren diesen

---

1) Meissner, Jahresbericht über die Fortschritte der Physiologie. 1861 pag. 266.

2) Meissner, Jahresbericht 1868 pag. 225.

von Jaffé gefundenen Farbstoff ebenfalls gesehen und mich durch spectroscopische Prüfung überzeugt, dass er mit dem Stoff von Jaffé identisch war.

So ist denn die Erkennung eines gemeinsamen Ursprunges der Gallen- und Harnfarbstoffe wenigstens angebahnt und es erübrigt noch, die einzelnen Stoffe selbst genauer zu studiren. Dass dieses Studium, trotz der vielen in dieser Richtung angestellten Versuche mehr oder weniger mangelhaft geblieben ist, hat theils darin seinen Grund, dass die Methoden, welche man angewandt hat, um die in Rede stehenden Stoffe rein darzustellen, nicht in allen Fällen so exact sind, dass man sicher sein könnte, ein reines Präparat zu bekommen, theils aber auch darin, dass das Material zu ihrer Darstellung in grösserem Massstabe nicht immer leicht zu beschaffen ist.

Die Schwierigkeit der Reindarstellung bezieht sich vornehmlich auf die Pigmente des Harnes, in Bezug auf die Gallenfarbstoffe aber hält es schwer, genügendes Material zu beschaffen, da man diese Stoffe in grösserer Menge nur aus Gallensteinen darstellen kann. Viele Untersucher, welche sich mit den Gallenpigmenten beschäftigt haben, waren genöthigt, ihre Arbeiten, wegen Mangels an weiterem Material, aufzugeben. Die Lehre von den Gallenfarbstoffen war bis zu den Untersuchungen Staedeler's sehr verwirrt, in Bezug auf die Harnfarbstoffe herrscht noch jetzt grosse Verworrenheit, man ist kaum über die Namen der verschiedenen Farbstoffe, welche man gefunden hat oder haben will, einig.

Der Erste, welchem man eine Notiz über die Farbstoffe der Galle verdankt, war Thénard[1]), er konnte zwar

1) Wagner, Handwörterbuch der Physiologie. Band I. Artikel Galle von Berzelius pag. 518.

den Farbstoff nicht aus der Galle abscheiden, aber er beobachtete, dass er aus Gallensteinen einen Farbstoff ausziehen konnte, welcher aus der alkalischen Lösung durch Säuren in grünen Flocken gefällt wurde. Berzelius stellte dann einen Gallenfarbstoff in grösserem Massstabe dar und verfuhr dabei folgendermassen[1]): er extrahirte die gepulverten Gallensteine so lange mit kochendem Alkohol, bis sie an denselben nichts mehr abgaben, und bezeichnete den erhaltenen braunen Rückstand als den Farbstoff, das Cholepyrrhin. Bald aber zeigte sich, dass diese Substanz nicht rein, sondern mit einer bedeutenden Menge von anorganischen Bestandtheilen gemischt sei. Die hierauf bezüglichen Untersuchungen wurden besonders angestellt von Scherer, Hein und Heintz.

Scherer[2]) stellte nach der Methode von Berzelius Gallenfarbstoff dar, und fand in demselben bei der Analyse:

C = 74,0 %
H = 6,3 %
N = 14,4 %

Später benutzte er zur Darstellung icterischen Harn und wandte zwei Methoden dabei an.

Die erste bestand darin, dass er den durch BaCl im zuvor filtrirten Harn erhaltenen Niederschlag durch Lösung von $NaOCO^2$ löste und die Lösung mit HCl zersetzte. Der Niederschlag wurde dann durch eine Mischung von

---

1) Heintz, über die in den Gallensteinen enthaltenen Farbstoffe. Annalen d. Chemie und Physik von J. C. Poggendorf. Band 84, pag. 106—118. (Die Orignalmittheilung von Berzelius stand mir nicht zur Verfügung).

2) Scherer, über die Zusammensetzung und Eigenschaften des Gallenfarbstoffes. Annalen d. Chemie u. Pharmacie v. Wöhler u. Liebig. Band 53, pag. 377—399.

Alkohol und Aether gelöst, und der Verdampfungsrückstand durch Auswaschen vollständig säurefrei gemacht.

Nach der zweiten Methode zerlegte er den Barytniederschlag mit Alkohol und Salzsäure, dampfte die Lösung ein und löste den Rückstand in Alkohol und Aether Der auf diese Weise erhaltene Farbstoff war „ein sehr schönes, feines, dunkelgrünes, in Wasser beinahe unlösliches, in Weingeist und Alkohol leicht, in reinem Aether etwas schwerer lösliches Pulver[1])".

Der nach der ersten Methode dargestellte Körper bestand aus:

C = 67,409
H = 7,692
N = 6,704
O = 18,195.

Die zweite Methode ergab folgende Zusammensetzung:

C = 68,192
H = 7,473
N = 7,074
O = 17,261.

Nachdem der Farbstoff mit HCl digerirt worden war, fand Scherer folgende Bestandtheile:

C = 61,837
H = 6,464
N = 9,080
O = 22,619

Um die Differenz aufzuklären, welche zwischen der ersten und den späteren Untersuchungen hinsichtlich der procentischen Zusammensetzung der analysirten Substan-

1) Scherer a. a. O. pag. 380.

zen sich herausgestellt hatte, ging Scherer von der Ansicht aus, dass die Differenz wahrscheinlich in einem Gehalt des zuerst analysirten Körpers an Aschebestandtheilen zu suchen sei. Er behandelte deshalb Farbstoff, aus Gallensteinen dargestellt, mit HCl, und fand nun in demselben:

C = 62,491 %
H = 6,148 %
N = 8,169 %
O = 23,192 %

Eine Formel für seinen Gallenfarbstoff stellte Scherer nicht auf. Hein[1]), welcher die gepulverten Gallensteine zunächst mit Wasser dann mit kochendem Alkohol und endlich mit Ammoniak behandelte, betrachtete den braunen Rückstand der Gallensteine als „modificirten Gallenfarbstoff", er bestand nach Abzug von 9,326% Asche aus:

C = 69,68 %
H = 7,60 %
N = 8,84 %
O = 13,88 %

nach Behandlung des Farbstoffes mit Salzsäure ergab sich:

C = 68,13 %
H = 6,313 %
N = 14,434 %
O = 6,041 %

Nach Auflösung des Stoffes in Kalilauge färbte sich die Lösung bald grün und Salzsäure schied aus ihr einen

---

1) Hein, chemische Versuche über Gallensteine und Gallenfarbstoffe. Journal f. practische Chemie v. Erdmann und Marchand. Band 40, pag. 47–56.

grünen Farbstoff in Flocken ab, das Biliverdin, welches bereits Scherer analysirt hatte. Hein fand:

$$C = 65{,}65\,\%$$
$$H = 6{,}62\,\%$$

Eine Formel stellte Hein ebenfalls nicht auf.

Die Kenntniss der Gallenfarbstoffe wurde nun von Heintz[1]) soweit gefördert, dass derselbe Formeln für die von ihm dargestellten und untersuchten Substanzen aufstellen konnte.

Um den braunen Gallenfarbstoff möglichst rein zu erhalten, schlug Heintz folgenden Weg ein: Das Gallensteinpulver wurde mit kochendem Alkohol erschöpft, dann mit HCl kalt und erwärmt extrahirt. Aber auch der so erhaltene Gallensteinrückstand enthielt noch anorganische Bestandtheile, weswegen ihn Heintz in $NaOCO^2$ löste und die Lösung unter Luftabschluss, zu welchem Zweck Heintz einen eignen Apparat construirte, mit HCl zersetzte, es wurde so nun der Farbstoff niedergeschlagen, während die anorganischen Stoffe gelöst blieben. Er erhielt so einen dunkelbraunen Farbstoff, welchen er Gallenbraun oder Biliphain nannte.

Die angestellte Analyse ergab folgende Zusammensetzung:

$$\text{Biliphain} = C^{32}H^{18}N^2O^9$$

Das Biliverdin stellte Heintz auch dar und zwar dadurch, dass er reines Gallenbraun in $NaOCO^2$ löste, die Lösung längere Zeit an der Luft stehen liess und schliesslich über Quecksilber mit Sauerstoff in Berührung brachte, wobei sich die braune Lösung schön grün färbte. Durch

1) Heintz a. a. O.

Zersetzung mit HCl wurde der Farbstoff gefällt. Die Analyse ergab:

$$\text{Biliverdin} = C^{32}H^{18}N^2O^{10}.$$

Die procentische Zusammensetzung beider Stoffe ist folgende:

Biliphain		Biliverdin	
C	= 61,94	C	= 60,38
H	= 5,80	H	= 5,66
N	= 9,03	N	= 8,80
O	= 23,23	O	= 25,16

Die von Heintz erzielten Resultate weichen von denen Scherer's und Hein's ab, als Erklärung dafür nimmt Heintz an, dass die von diesen Forschern analysirten Stoffe nicht rein gewesen seien.

Die von den bisher aufgeführten Untersuchern analysirten Pigmente waren alle als amorphe Körper dargestellt, es war daher ein wesentlicher Fortschritt in der Chemie der Gallenfarbstoffe, als es Valentiner [1]) gelang, aus Gallensteinen und aus Galle ein krystallisirtes Pigment zu isoliren, da durch diese Entdeckung eine einfachere Methode zur Reindarstellung des betreffenden Körpers gegeben war. Valentiner behandelte das Gallensteinpulver zunächst mit Aether und Alkohol, und zog dann durch Chloroform einen Farbstoff aus, welcher beim Verdunsten der Lösung in rothen rhomboidalen Plättchen sich ausschied. Aus der Galle gewann er dieselben Krystalle durch Schütteln derselben mit Chloroform.

Den so gewonnenen Farbstoff hielt Valentiner für identisch mit dem Haematoidin, ohne allerdings analytische Belege dafür beizubringen. Es ist hier nicht der Ort, näher auf das Verhältniss des Haematoidins zu dem von

1) Valentiner, zur Kenntniss der animalischen Pigmente. Günzburg's Zeitschrift für klinische Medicin N. F. Band I, pag. 46–52.

Valentiner dargestellten Farbstoff, dem Bilirubin, einzugehen, aber ich möchte nur beiläufig bemerken, dass, als ich einen Echinococcussack aus der Leber, in welchem sich ziemlich viel Haematoidin befand, mit Natronlauge behandelte, die zuerst gelbroth aussehende Flüssigkeit beim Stehen an der Luft sich grün färbte in derselben Weise, als wenn man das Bilirubin in alkalische Lösung bringt.

Gestützt auf die Entdeckung von Valentiner unternahm Staedeler[1]) eine erneuete Untersuchung der Gallenfarbstoffe, und er ist es, der in die bis dahin ziemlich verwirrten Verhältnisse Ordnung brachte.

Die Darstellungsmethode Staedeler's muss hier ausführlich wiedergegeben werden, da auch ich mich im Wesentlichen derselben bedient habe.

Die fein zerriebenen Gallensteine wurden zunächst durch Aether von Fett und Cholestearin befreit, dann mit heissem Wasser behandelt, um mechanisch beigemengte Galle zu entfernen und hierauf mit Chloroform ausgekocht, an welches die Steine aber nur wenig Farbstoff abgaben. Um nun den Kalk, an welchen das zu gewinnende Pigment gebunden ist, zu entfernen, wurde der Rückstand mit verdünnter HCl extrahirt, ausgewaschen, getrocknet und abermals mit Chloroform gekocht, welches sich nun durch Aufnahme erheblicher Massen des Farbstoffes rothbraun färbte. Der Rückstand sämmtlicher Chloroform-Auszüge bestand aus einer schwarzen Masse, aus welcher alcohol absolutus ein braunes Pigment, welches Staedeler Bilifuscin nennt, auszog, der Rückstand war roth, Staedeler nennt ihn Bilirubin. Aus dem durch Chloroform völlig erschöpften Gallensteinpulver nahm Weingeist noch

1) Staedeler, über die Farbstoffe der Galle. Annalen d. Chemie u. Pharmacie v. Liebig, Wöhler u. Kopp. Band 131, pag. 323.

einen in Lösung grünaussehenden Körper, das Biliprasin, auf. Den ganz erschöpften, in Wasser, Weingeist, Aether, Chloroform und verdünnten Säuren unlöslichen Steinrückstand nennt Staedeler Bilihumin. Es existiren also nach diesen Angaben in den Gallensteinen vier Pigmente nämlich:

I. Bilirubin
II. Bilifuscin
III. Biliprasin
IV. Bilihumin

Die Analyse des reinen Bilirubins ergab:

$$\text{Bilirubin} = C^{32}H^{18}N^2O^6$$

während Heintz $= C^{32}H^{18}N^2O^9$

angegeben hatte, es ist aber wahrscheinlich, dass Heintz ein Farbstoffgemenge analysirte.

In Betreff des Biliverdin von Heintz nahm Staedeler an, dass die Formel:

$$C^{32}H^{18}N^2O^{10}$$

nicht richtig sei, dass vielmehr die gefundenen Kohlenstoff- und Stickstoffmengen besser mit der Formel:

$$C^{32}H^{18}N^2O^{10}$$

übereinstimmen, so dass das Biliverdin aus dem Bilirubin entstehe durch Aufnahme von HO und O nach folgender Gleichung:

Bilirubin — Biliverdin

$$C^{32}H^{18}N^2O^6 + 2HO + 2O = C^{32}H^{20}N^2O^{10}.$$

Staedeler hat jedoch das Biliverdin nicht selbst analysirt.

Dem gereinigten Bilifuscin legt er die Formel

$$C^{32}H^{20}N^2O^8$$

bei, für das Biliprasin nimmt er an:

$$C^{32}H^{22}N^2O^{12},$$

Das Bilihumin wurde nicht untersucht.

Die Farbstoffe von Staedeler stehen also in folgender Beziehung zu einander:

Bilirubin		Bilifuscin
‖		‖
$C^{32}H^{18}N^2O^6 + 2HO$	=	$C^{32}H^{20}N^2O^8$
+		+
$2HO + 2O$		$2HO + 2O$
‖		‖
Biliverdin		Biliprasin
‖		‖
$C^{32}H^{20}N^2O^{10} + 2HO$	=	$C^{32}H^{22}N^2O^{12}$

Fast schien es nun, als hätte die Lehre von den Gallenfarbstoffen durch Staedeler ihre endgültige Erledigung gefunden, allein durch die Untersuchungen von Thudichum[1]), welche vier Jahre später erschienen, wurde ein Theil der von Staedeler festgestellten Thatsachen in Frage gestellt. Thudichum stellte das Bilirubin nach der Methode von Staedeler, mit unwesentlichen Modificationen, dar, und fand, dass der Farbstoff in zwei Modificationen, die sich chemisch gleich verhielten, vorkam, die eine war rothbraun, die andere rein roth. Als Formel für das Bilirubin stellte er auf:

$$\text{Bilirubin} = C^{18}H^9N^2O^4$$

wich also bedeutend von Staedeler ab. Er analysirte auch eine Reihe von Verbindungen des Bilirubins, und zwar mit: Ammonium, Kalium, Natrium, Silber, Baryum, Calcium, Zink und Blei.

Das Biliverdin stellte Thudichum dadurch dar, dass er

---

1) Thudichum, Untersuchungen über die Gallenfarbstoffe. Erdmann's Journal f. practische Chemie. Band 104, pag. 193.

Bilirubin in Aetzkali löste, und die Lösung an der Luft stehen liess, bis sie grün geworden war, worauf der Farbstoff durch HCl niedergeschlagen wurde. Bei der Analyse stellte sich folgende Zusammensetzung heraus:

$$\text{Biliverdin} = C^{16}H^{9}NO^{4}$$

Thudichum fand also auch für das Biliverdin eine andere Zusammensetzung, als von Heintz und von Staedeler angegeben war.

In Betreff der Theorie der Entstehung des Biliverdins aus dem Bilirubin weicht Thudichum ebenfalls von Staedeler ab, indem er annimmt, dass die Umwandlung bewirkt werde durch Aufnahme von Sauerstoff und Austritt von Kohlensäure nach folgender Gleichung:

$$\text{Bilirubin} = C^{18}H^{9}NO^{4} + 4O = \text{Biliverdin} \parallel C^{16}H^{9}NO^{4} + 2CO^{2}$$

Ausserdem untersuchte Thudichum noch die Verbindungen des Biliverdins mit Calcium und Baryum. Fast gleichzeitig mit Thudichum hatte auch Maly [1]) Untersuchungen über die Gallenfarbstoffe angestellt.

Er verarbeitete sowohl menschliche als auch thierische Gallensteine, und stellte das Bilirubin, welches er Cholepyrrhin nennt, nach der Methode von Staedeler dar. Die Analyse ergab eine vollständige Uebereinstimmung mit Staedeler, nämlich

$$\text{Bilirubin} = C^{32}H^{18}N^{2}O^{6}.$$

Maly bestimmte zwar nur C und H, doch da er hierbei schon eine vollständige Uebereinstimmung mit Stae-

1) Maly, Untersuchungen über die Gallenfarbstoffe. Sitzungs-Berichte der kaiserl. Academie d. Wissenschaften in Wien. Band 57, Abthlg. II. Jahrgang 1868, Februar-Heft. Vergl. auch: Journal f. practische Chemie von Erdmann. Band 104, pag. 28—41.

deler erzielte, so wollte er weiteres Material nicht opfern zur Bestimmung des N.

Ausführlichere Angaben machte Maly über das Biliverdin. Schon früher[1]) hatte er die Behauptung aufgestellt, dass das Cholepyrrhin als ein Amid des Biliverdin anzusehen sei, ohne indess beweisende analytische Data beizubringen, er nahm aber jetzt diese Ansicht zurück.

Für das Biliverdin fand Maly folgende Formel:

$$\text{Biliverdin} = C^{32}H^{18}N^2O^8,$$

stimmt also mit Thudichum, nicht aber mit Staedeler überein, in der Ansicht über die Entstehungsweise des Biliverdin weicht er aber auch von Thudichum ab, da er das Biliverdin für die niedrigste Oxydationsstufe des Bilirubins hält und annimmt, dass es aus dem Bilirubin durch Aufnahme von 2O entstehe.

Bis auf die Untersuchungen von Maly kannte man nur eine sichere Methode der Darstellung des Biliverdins, nämlich Auflösung des Bilirubins in alkalischer wässriger Flüssigkeit und Fällung mit HCl, nachdem die Lösung eine Zeitlang der Luft ausgesetzt gewesen war. Maly fand nun noch mehrere andere Methoden, man kann nach seinen Angaben die Verwandlung vornehmen:

I. Durch Erhitzung einer Chloroform-Lösung des Bilirubins mit Eisessig in zugeschmolzenen Glasröhren.

II. Durch Bleisuperoxyd, welches man einer alkalischen Bilirubinlösung hinzufügt, worauf sich nach dem Ansäuern mit Essigsäure Biliverdin bildet, welches durch schwefelsäurehaltigen Alkohol isolirt wird.

III. Durch Jod und Brom, wenn man diese Stoffe in

1) Maly, vorläufige Mittheilung über die chemische Natur der Gallenfarbstoffe. Annalen d. Chemie u. Pharmacie v. Wöhler, Liebig u. Kopp. Band 131, pag. 127.

sehr verdünnter alkoholischer Lösung einer Chloroform-Lösung des Bilirubins zusetzt.

Maly nimmt an, dass es bei der ersten Methode der Sauerstoff der im Glasrohr mit eingeschlossenen Luft sei, welcher die Umwandlung bewirke, bei der zweiten Methode giebt das Bleisuperoxyd den Sauerstoff ab, und bei der dritten endlich zersetzt das Jod oder Brom das im Chloroform und Alkohol enthaltene Wasser, bildet mit ihm HJ oder HB, und der Sauerstoff tritt zu dem entstehenden Biliverdin.

Trotzdem diese Angaben sehr wahrscheinlich klingen, und dadurch die Annahme der Richtigkeit der Analysen nahe gelegt wird, so erschien es mir doch nicht unnütz, noch einmal das Biliverdin zu untersuchen, um wo möglich seine Zusammensetzung und Entstehungsweise endgültig festzustellen. Es ist mir dies nun zwar nicht gelungen, aber ich theile doch meine Untersuchungen mit, weil sich dabei ein Resultat herausgestellt hat, welches vielleicht für zukünftige Untersuchungen von Nutzen sein könnte.

Ich begann damit, eine möglichst grosse Menge Bilirubin's herzustellen, und zwar verwandte ich zu diesem Zweck nur Gallensteine von Menschen. Man kann auch Galle und selbst frische Lebern verarbeiten, jedoch ist es dann sehr schwierig, das Präparat rein darzustellen.

Durch Ueberlassung von Gallensteinen wurde ich besonders unterstützt von den Herrn Professor Krause, Professor Meissner und Dr. Schütte in Göttingen, Ob. Med.-Rath Brandes in Hannover, und Dr. Aronheim in Braunschweig, sämmtlichen Herren meinen besten Dank.

Unter den Steinen, welche Herr Professor Meissner mir zu überlassen die Güte hatte, befand sich ein wallnussgrosser von dunkelbrauner Farbe, welcher eine beson-

ders reiche Ausbeute an Farbstoff lieferte. Die Darstellung geschah nach der Methode von Staedeler, wobei sich allerdings ein ziemlich beträchtlicher Verlust nicht vermeiden lässt. Wenn man nämlich sicher sein will, das Bilirubin wirklich rein zu bekommen, so genügt es nicht, den Farbstoff mit Chloroform zu extrahiren und aus dem Rückstande der Extracte das Bilifuscin durch Alkohol zu entfernen, sondern [1]) man muss dann das Bilirubin noch einmal in Chloroform lösen, und diese Lösung soweit abdestilliren, bis die spontane Abscheidung des Bilirubins beginnt, setzt man nun alcohol absolutus zu, so entsteht ein orange-rother Niederschlag von amorphem, chemisch reinem Bilirubin, während in der grünbraunen Flüssigkeit neben ziemlich vielem Bilirubin noch etwas Biliprasin enthalten ist. Wenn man diese Lösung noch weiter eindampft, und noch einmal Alkohol hinzusetzt, um das Bilirubin zu fällen, so entsteht kein Niederschlag, weil die Flüssigkeit zu verdünnt ist, es ist überhaupt nach dieser Methode unmöglich, das noch in der Flüssigkeit enthaltene Bilirubin zu gewinnen, da man es von den anhaftenden Biliprasin nicht trennen kann.

Die Angaben von Staedeler, Thudichum und Maly über Farbe, Krystallform und Löslichkeitsverhältnisse kann ich nach eignen Beobachtungen bestätigen, nur habe ich die beiden Modificationen des Bilirubins von Thudichum nicht gesehen, sondern stets nur einen orange-rothen Farbstoff. Auch fand ich für das reine Bilirubin dasselbe Absorptionsspectrum wie Maly a. a. O.

Da Staedeler und Maly zu ganz übereinstimmenden Resultaten gelangt waren, so lag kein Grund vor, das Bilirubin noch einmal zu untersuchen, ich beabsichtigte

1) Staedeler, a. a. O. pag. 327.

vielmehr, zunächst das Bilirubin möglichst vollständig und exact in Biliverdin überzuführen. Die Verwandlung durch Bleisuperoxyd nach Maly, welche ich an einer kleinen Probe versuchte, misslang, und, da ich kein weiteres Material dazu verwenden wollte, konnte ich die Ursachen dieses Misslingens nicht aufklären. Die Methode der Ueberführung vermittelst Eisessigs habe ich nicht angewendet, dagegen hatte ich schon früher an kleinen Proben beobachtet, dass die Umwandlung durch verdünnte alkoholische Bromlösung sehr leicht zu bewerkstelligen sei.

Es wurde daher sämmtliches Bilirubin in Chloroform gelöst und dann die Bromlösung, von etwa 1 p. m. Gehalt, aus einer Bürette vorsichtig zugetröpfelt. Schon nach Zusatz von einigen Cc. bekam die vorher tief rothe Flüssigkeit einen Stich in's Grüne, und man konnte, bei weiterem vorsichtigem Zusatz, genau den Punkt treffen, wo die Flüssigkeit rein feurig-grün war, und sich, wie an einer kleinen separat untersuchten Probe ersichtlich war, nicht tiefer grün färbte, sondern bläulich wurde.

Sehr vortheilhaft würde es sein, wenn man dem ganzen Process die Sicherheit eines Titre-Versuches geben könnte, aber leider scheitert das an der grossen Flüchtigkeit des Broms.

Die spectroskopische Analyse der so gewonnenen Flüssigkeit zeigte, wenn sie in dickeren Schichten untersucht wurde, nur grün, während das ganze übrige Spectrum ausgelöscht war, verunreinigte man aber die Lösung mit wenig Bilirubin, so trat sogleich das Spectrum des Bilirubins mit hervor.

Ich liess nun die Flüssigkeit zwölf Tage lang stehen, da ich bei einigen Vorversuchen beobachtet hatte, dass der Farbstoff, auch wenn er nach Beendigung des Versuches noch rein grün aussieht, zuweilen bei längerem

Stehen in verschlossenen Gefässen sich bläulich und endlich blau färbt.

Vielleicht beruht diese Veränderung auf einer Nachwirkung zu reichlich zugesetzten Broms. Nach Ablauf der bezeichneten Frist hatte die Flüssigkeit ihre Farbe nicht verändert, sie wurde nun noch einmal spectroskopisch untersucht, und auch bei dieser Untersuchung wurde keine Veränderung gefunden, so dass man sicher sein konnte, nur den grünen Farbstoff in der Lösung zu haben.

Dieselbe wurde nun vorsichtig im Wasserbade abgedampft, wobei sich nach Beendigung des Processes ein schwarzer Niederschlag abschied. Bevor ich nun zur näheren Beschreibung des von mir dargestellten grünen Farbstoffes übergehe, gebe ich zur Vergleichung die Eigenschaften des von Thudichum und Maly dargestellten Biliverdins.

Thudichum[1]) beschreibt dasselbe als einen harten Körper mit glänzender Bruchfläche und von schwarzer Farbe. In Pulverform sieht es dunkelgrün aus, seine Structur ist amorph. Der Körper ist löslich in Alkohol, Salzsäure und den Alkalien, unlöslich in Wasser, Aether und Chloroform.

Maly[2]) beschreibt sein Biliverdin folgendermassen: Es ist ein schwarzer glänzender, gepulvert schwarzgrüner Körper ohne Geruch und Geschmack. Unlöslich in Benzol, Schwefelkohlenstoff und Chloroform, schwer löslich in Amylalkohol, Jodäthyl und Aether, leicht löslich in Säuren, kohlensauren und kaustischen Alkalien, sowie in Chloroform, Jodäthyl und Amylalkohol, wenn diese wenig Alkohol enthalten.

---

1) Thudichum a. a. O. pag. 214.

2) Maly, Journal f. practische Chemie v. Erdmann. Band 104, pag. 37.

Der grüne von mir dargestellte Farbstoff zeigt folgende Eigenschaften: Er ist hart und spröde, glänzt stark auf der Bruchfläche und hat eine schwarze Farbe. Mikroscopisch untersucht besteht er aus Conglomeraten von schwarzen, am Rande tief grün durchscheinenden rhombischen Tafeln[1]). Er ist leicht löslich in Alkohol, Chloroform und in Gemischen beider mit tief dunkelgrüner Farbe, ebenso in Lösungen der kaustischen Alkalien, unlöslich aber in Amylalkohol. Zusatz von alkoholischer Bromlösung färbt ihn blau, später weinroth, Salpetersäure erzeugt die Gmelinsche Reaction, Schwefel- und Chlorwasserstoffsäure färben die Lösung allmählig röthlich.

Ich schritt nun zur Elementaranalyse und gab mich schon der Hoffnung hin, ein krystallisirtes Biliverdin dargestellt zu haben, denn dass der vorliegende Körper Biliverdin war, musste ich nach Maly, dessen Vorschrift ich bei der Darstellung genau gefolgt war, annehmen.

Zur ersten Analyse verwandte ich 0,0905 Gramme der Substanz, beobachtete aber schon in den ersten Momenten der Verbrennung, dass sich die Innenfläche des Rohres mit einem weissgelblichen Beschlage bedeckte, jedenfalls bestand die Substanz also nicht aus reinem Biliverdin. Der fragliche Körper am Verbrennungsrohr bestand aus Kupfer und Brom, es enthielt also die analysirte Substanz Brom und konnten so die Resultate der Analyse nicht massgebend sein, da, weil ich den Bromgehalt nicht vermuthet hatte, keine Vorkehrungen getroffen waren, um das Brom zu bestimmen. Auch das Wasser im CaCl Rohr roch und schmeckte deutlich nach Brom.

---

1) Herr Professor Krause hatte die Gefälligkeit, die mikroscopischen Präparate mit anzusehen und überzeugte sich auch von deren krystallinischer Structur.

Trotzdem nun a priori vorausgesetzt werden konnte, dass die erhaltenen Resultate unrichtig seien, so berechnete ich doch die Procentzahlen für C und H, um zu erfahren, ob, wenn man annähme, dass in dem analysirten Körper an Stelle von 1H, 1Br eingetreten sei, und unter Zugrundelegung der Formel Maly's für das Biliverdin, die Berechnung für C und H Zahlen ergeben würde, welche wenigstens annähernd mit der Theorie übereinstimmten. Ich nahm also als hypothetische Formel an:

$$C^{32}H^{17}BrN^2O^8.$$

Dieselbe entspricht folgender procentischen Zusammensetzung:

C = 50,4 %
H = 4,5 %
Br = 21,0 %
N = 7,3 %
O = 16,8 %

100,0 %

Die Analyse ergab:

C = 52,03 %.
H = 5,0 %.

Verschiedene Umstände gestatteten es mir nicht, sogleich weitere Analysen anzustellen, später aber nahm ich noch drei Analysen vor, deren Resultate aber so erheblich sowohl unter sich, als auch von der ersten differiren, dass ich nicht in der Lage bin, eine Formel für den dargestellten Körper aufzustellen und nur bemerken möchte, dass der Wasserstoffgehalt sich danach bedeutend höher stellt, etwa 10—12 %, der Kohlenstoffgehalt aber geringer ist, etwa 34—36 %. Der Bromgehalt des Körpers wurde wieder bei sämmtlichen drei Analysen constatirt, und um seinen Einfluss auf die Ergebnisse der Analyse auszuschliessen,

verbrannte ich zuerst die Substanz mit chromsaurem Bleioxyd, und legte in der zweiten und dritten Analyse eine Spirale von Silberdraht vor.

So hat denn die Untersuchung, wie schon oben bemerkt, keineswegs das gewünschte Resultat ergeben. Es hat sich aber herausgestellt, dass, wenn man das Bilirubin auf die angegebene Art mit Brom behandelt, ein krystallisirender grüner Farbstoff entsteht, welcher in seinem äussern Ansehn und theilweise in seinen Löslichkeitsverhältnissen dem Biliverdin sehr nahe steht und wahrscheinlich als eine Bromverbindung desselben zu betrachten ist. Das grösste Interesse hat offenbar das krystallinische Verhalten, da bis jetzt keine andere krystallisirte Biliverdinverbindung bekannt ist. Leider hat Maly nicht angegeben, auf welchem Wege er sein Biliverdin dargestellt hat, der Umstand, dass er theilweise mit thierischen Gallensteinen gearbeitet hat, kann bei der Aufklärung über die Ursachen der erhaltenen differenten Resultate nicht in Betracht kommen, da Thudichum, welcher nur menschliche Gallensteine verarbeitete, zu denselben Resultaten in Betreff des Biliverdin kam, wie Maly.

Vielleicht hätte die Behandlung des Bilirubins mit Eisessig zur Darstellung des reinen Biliverdins geführt, aber ich konnte diesen Weg nicht mehr einschlagen, da ich alles mir zu Gebote stehende Bilirubin mit Brom behandelt hatte. Sobald ich aber wieder Material gesammelt haben werde, werde ich das „Brombiliverdin“ weiter untersuchen.

Die Arbeiten wurden in den Laboratorien der pathologisch-anatomischen Anstalten zu Göttingen und Wien ausgeführt.